

miRNA-146a 基因多态性与肝癌易感性的 meta 分析

顾丽华¹, 黄晓丹², 季国忠^{1*}

(¹南京医科大学第二附属医院全科医学科,²消化内科,江苏 南京 210011)

[摘要] 目的: 通过 meta 分析评价 miRNA-146a rs2910164 位点基因多态性与肝癌易感性之间的相关性。方法: 系统地检索 PubMed、Embase、Web of Science、中国知网以及中国生物医学文献数据库 2017 年 1 月 30 日之前发表的相关文章,用总的比值比(odd ratios, OR)及相应的 95%可信区间(credibility intervals, CI)来评价 miRNA-146a 基因多态性与肝癌易感性之间的相关性。结果: 共纳入了 18 项病例对照研究,包括 5 657 例肝癌病例与 6 680 例健康对照。经过统计分析未发现 miRNA-146a rs2910164 位点的基因多态性与肝癌易感性之间存在相关性(C vs. G; OR=0.96, 95%CI=0.88~1.06; GC vs. GG; OR=0.98, 95%CI=0.88~1.09; CC vs. GG; OR=0.90, 95%CI=0.74~1.09; GC/CC vs. GG; OR=0.95, 95%CI=0.82~1.10; CC vs. GC/GG; OR=0.95, 95%CI=0.84~1.07)。结论: 目前没有足够证据能够证明 miRNA-146a 基因多态性与肝癌易感性之间存在相关性。未来有必要在大规模和设计完善的研究中加以验证。

[关键词] miRNA; 基因多态性; 肝癌; meta 分析

[中图分类号] R735.7

[文献标志码] A

[文章编号] 1007-4368(2017)09-1222-05

doi: 10.7655/NYDXBNS20170932

Association of miRNA-146a polymorphism with hepatocellular carcinoma risk: a meta-analysis

Gu Lihua¹, Huang Xiaodan², Ji Guozhong^{1*}

(¹Department of General Family Medicine, ²Department of Gastroenterology, the Second Affiliated Hospital of NJMU, Nanjing 210011, China)

[Abstract] **Objective:** To assess the association between miRNA-146a rs2910164 polymorphism and HCC risk by a meta-analysis. **Methods:** A systematical search of studies was conducted in papers published in PubMed, Embase, Web of Science, China National Knowledge Infrastructure (CNKI) and Chinese Biomedical Literature Database (CBM) databases before January 30, 2017. Odds ratios (OR) and 95% confidence intervals (95% CI) were used to evaluate the association between miRNA-146a polymorphism and HCC risk. **Results:** A total of 18 case-control studies involving 5 657 cases and 6 680 healthy controls were included in this meta-analysis, in which no association was found between miRNA-146a rs2910164 polymorphism and HCC risk in any genetic models (C versus G; OR=0.96, 95% CI=0.88~1.06; GC versus GG; OR=0.98, 95% CI=0.88~1.09; CC versus GG; OR=0.90, 95% CI=0.74~1.09; GC/CC versus GG; OR=0.95, 95% CI=0.82~1.10; CC versus GC/GG; OR=0.95, 95% CI=0.84~1.07). **Conclusion:** No sufficient evidence supports the association between miRNA-146a rs2910164 polymorphism with hepatocellular carcinoma risk. The conclusion should be verified in large-scale and well-designed studies in the future.

[Key words] miRNA; polymorphism; hepatocellular carcinoma; meta-analysis

[Acta Univ Med Nanjing, 2017, 37(09): 1222-1226]

肝癌恶性程度较高且预后较差, 亚洲和非洲是全世界肝癌发病率最高的国家, 约 75% 的肝癌发生在亚洲^[1]。慢性乙型肝炎病毒和丙型肝炎病毒感染是肝癌的主要危险因素, 但是只有 10% 的受感染个体最终发展为肝癌^[2]。因此, 基因以及环境因素可能参与了肝癌的发生与发展。微小 RNA (microRNA,

miRNA) 是一类非编码约含 19~22 个核苷酸的小 RNA, 可能在肿瘤的发生、发展、生长及耐药中发挥重要作用^[3]。单核苷酸多态性发生在 miRNA 基因区域, 它通过改变 miRNA 的表达和(或)成熟来影响 miRNA 的特性^[4]。流行病学研究表明 miRNA 的基因多态性与多种肿瘤有关。目前很多研究探讨了 miRNA-146a rs2910164 基因多态性与肝癌易感性之间的相关性^[2-3], 但是仍存在争议, 没有得出一致的结论。为消除单项研究结论的局限性, 本研究通过 meta 分析

[基金项目] 国家自然科学基金(81301823)

*通信作者(Corresponding author), E-mail: jgzl@163.com

拟进一步阐明两者之间的关系,以期得到更加可靠的结论。

1 资料和方法

1.1 资料

通过自由词与主题词相结合的方式制定检索式: (“hepatocellular carcinoma”OR “hepatoma”OR “liver cancer”) and (“miRNA-146a” OR “microRNA-146a” OR “miR-146a”), 系统地检索了 PubMed、Embase、Web of Science、中国知网以及中国生物文献数据库中在线发表于 2017 年 1 月 30 日之前的所有中、英文文献,对之前已发表的相关 meta 分析和综述也进行了检索,作为补充。另外以“肝癌”或“hepatocellular carcinoma”、“全基因组关联分析”或“GWAS”作为关键词进行联合检索,获得关于原发性肝癌的全基因组关联分析 (genome-wide association studies, GWAS) 研究文献,其中未发现 miRNA-146a rs2910164 这一基因易感位点。

纳入研究必须符合以下标准:①关于 miRNA-146a 与肝癌易感性之间的研究;②是基于人类的病例对照研究;③完整提供有关基因型和等位基因数量的数据;④能够获得文献全文。

1.2 方法

2 名数据提取人员分别独立地利用纽卡斯尔-渥太华质量评价量表(Newcastle-Ottawa quality assessment Scale, NOS)对所纳入的文献进行质量评价,包括研究对象选择 4 个条目,组间可比性 1 个条目以及暴露因素测量 3 个条目,评估满分为 9 分,评分 5 分及以上视为质量较好,予以纳入。两名作者独立提取纳入研究的数据,提取的数据包括:第一作者姓名、出版年份、国籍、种族、基因分型方法、病例组和对照组的样本量及基因型频率、对照组哈迪-温伯格平衡(Hardy Weinberg equilibrium, HWE)的 P 值,未给出 HWE P 值的需根据文献中基因型频率计算得出。两位作者遇到分歧时通过讨论达成共识。

2 结果

2.1 纳入文献的特征

经过筛选(图 1),根据纳入和排除标准,共有 18 个病例对照研究(包括 5 657 例肝癌患者和 6 680 例健康对照者)纳入研究。其中 16 篇文献研究对象是中国人,另外 2 篇研究对象分别为土耳其人和韩国人。纳入本研究的文献质量评分均 ≥ 5 分,表明质量较好。纳入研究的详细数据见表 1。

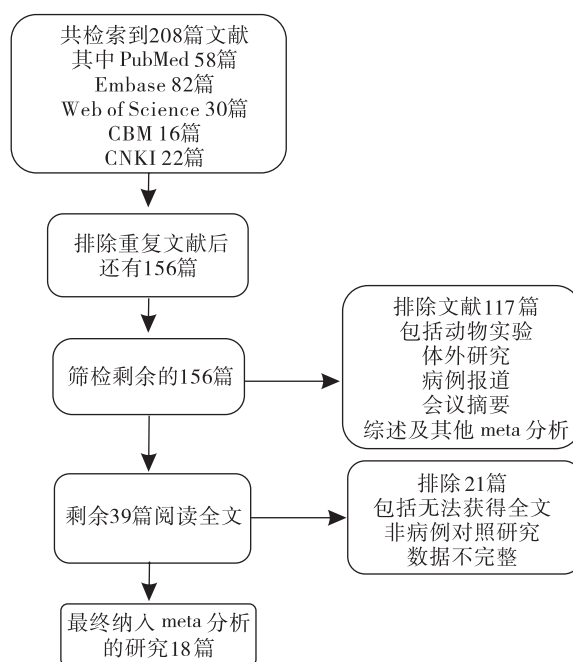


图 1 文献筛选流程图

Figure 1 Flow chart of study selection

2.2 meta 分析

首先,分析了 miRNA-146a rs2910164 基因多态性与肝癌易感性之间的关系,共有 18 项病例对照研究纳入系统评价,其中包括 17 项亚洲人种研究及 1 项高加索人种研究。经统计分析发现等位基因模型、纯合子基因模型、显性基因模型及隐性基因模型中均存在轻中度异质性, I^2 值分别为 63%、58%、46% 和 51%。利用 Revman5.3 软件进行统计分析时,一般有固定效应模型和随机效应模型两种方式,对于以上存在异质性的基因模型采用随机效应模型,以免得出假阳性结果。对 5 种基因模型进行统计分析发现 miRNA-146a rs2910164 基因多态性与肝癌易感性之间不存在相关性 (C vs.G:OR=0.96,95%CI=0.88~1.06;GC vs.GG:OR=0.98,95%CI=0.88~1.09;CC vs.GG:OR=0.90,95%CI=0.74~1.09;GC/CC vs.GG:OR=0.95,95%CI=0.82~1.10;CC vs.GC/GG:OR=0.95,95%CI=0.84~1.07;图 2)。为进一步探讨异质性的来源,针对样本人群的种族及样本量(病例组加对照组的总和)的大小进行了亚组分析。根据种族分为亚洲组和高加索组,根据样本量,又分为 ≥ 500 例组与 < 500 例组。亚组分析结果提示在各亚组中,均没有发现 rs2910164 位点基因多态性与肝癌易感性有关,其中只有 1 篇文献是关于高加索人种的研究,其结果也为阴性 (C vs.G:OR=1.09,95%CI=0.78~1.50;GC vs.GG:OR=1.18,95%CI=0.79~1.76;CC vs.GG:OR=0.96,95%CI=0.39~2.32;GC/CC vs.GG:OR=1.15,95%

表1 入选文献的基本特征
Table 1 Characteristics of eligible studies

第一作者	年份	国家	种族	基因分析方法	对照来源	病例样本(n)	对照样本(n)	NOS评分	P值*
Zhang ^[3]	2016	中国	黄种人	PCR-RFLP	HB	175	302	6	0.92
Li ^[5]	2015	中国	黄种人	PCR-RFLP	HB	184	184	6	0.59
Li ^[6]	2015	中国	黄种人	PCR-RFLP	HB	266	266	7	0.13
Yan ^[7]	2015	中国	黄种人	PCR-RFLP	HB	274	328	6	0.14
Chu ^[8]	2014	中国	黄种人	PCR-RFLP	HB	188	337	7	0.48
Cong ^[9]	2014	中国	黄种人	PCR-RFLP	HB	206	217	6	0.93
Kou ^[10]	2014	中国	黄种人	PCR-RFLP	HB	271	532	6	<0.001
Qi ^[11]	2014	中国	黄种人	HRM	HB	314	407	8	1.47
Zhou ^[2]	2014	中国	黄种人	PCR-RFLP	HB	266	281	7	0.02
Shan ^[12]	2013	中国	黄种人	PCR-RFLP	HB	172	185	8	0.03
Zhang ^[13]	2013	中国	黄种人	MassARRAY	PB	997	998	7	0.99
Hao ^[14]	2012	中国	黄种人	PCR-RFLP	HB	235	281	7	0.02
Kim ^[15]	2012	韩国	黄种人	PCR-RFLP	PB	159	201	6	0.42
Xiang ^[16]	2012	中国	黄种人	PCR-RFLP	HB	100	100	6	0.80
Zhou ^[17]	2012	中国	黄种人	PCR-RFLP	HB	186	483	8	0.16
Akkiz ^[18]	2011	土耳其	白种人	PCR-RFLP	HB	222	222	9	0.68
张新伟 ^[19]	2011	中国	黄种人	PIAR-PCR	HB	963	852	7	0.35
Xu ^[20]	2008	中国	黄种人	PCR-RFLP	HB	479	504	6	0.29

HB: 基于医院; PB: 基于人群; *: 采用Hard-Weinberg平衡检验。

CI=0.78~1.69; CC vs. GC/GG; OR=1.01, 95%CI=0.79~1.28); 而且发现在样本量 ≥ 500 例的分组中, 各基因模型计算得到的异质性均显著降低, 而在样本量 < 500 例的分组中, 异质性大大增加。而且在剔除掉对照组不符合HWE的研究后, 统计结果没有发生明显改变。以上统计结果见表2。

2.3 敏感性分析与发表偏倚

利用依次从整体中删除单个研究的方法进行敏感性分析, 依次剔除各研究后再进行统计分析, 在各基因模型中仍未发现rs2910164位点基因多态性与肝癌易感性相关, 这表明得到的统计分析结果稳定可靠。各基因模型的漏斗图基本对称, 所以不存在明显的发表偏倚(图3)。

3 讨论

目前有不少研究探索了miRNA-146a rs2910164位点基因多态性与肝癌易感性之间的相关性, 但是得出的结论存在分歧。单核苷酸多态性是人类最常见的遗传变异来源, miRNA-146a rs2910164位点基因多态性会影响成熟的miRNA-146a的表达水平, 导致某些疾病的遗传易感性^[21]。有研究表明miRNA-146a rs2910164位点基因多态性与肝癌易感性之间

存在相关性^[2-3,9], 另外一些研究则未发现二者之间明显的相关性。本研究主要目的是为了进一步探讨miRNA-146a rs2910164位点基因多态性与肝癌易感性之间的关系。结果表明, 目前尚没有足够证据证明rs2910164位点基因多态性与肝癌易感性相关。关于异质性检验, 特别是根据样本量进行亚组分析时, 发现样本量 ≥ 500 例的分组异质性较之前总体结果均显著下降, 而样本量 < 500 例的分组异质性较之前明显升高, 因此认为异质性可能来源于样本量 < 500 例的研究。而且本次纳入的文献中主要是关于亚洲人种的研究, 其他种族只有1篇, 而各种族遗传背景及生存环境存在差异, 可能会对结果产生一定影响, 提示今后有必要进行多种族、大样本的病例对照研究以便得到更加可靠稳定的结果。

本meta分析尚存在一些局限性。首先, 本研究受纳入研究数量、样本量及研究对象种族的限制, 尤其是以高加索人种为检测对象的研究更少; 其次, 只纳入了公开发表的研究, 那些因结果阴性未能发表以及无法获取全文的研究都可能被遗漏而导致纳入的研究不够全面; 再次, 纳入的研究中有些没有阐明病例组及对照组之间年龄及性别的匹配情况, 入组人群的教育背景以及暴露的环境因素也没有明确说

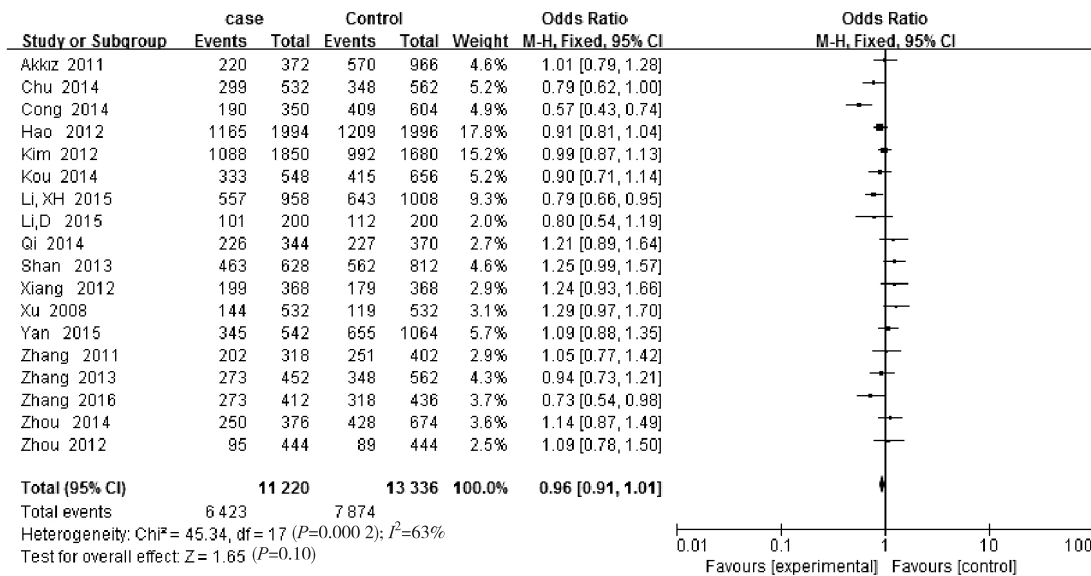


图 2 miRNA-146a rs2910164 基因多态性与肝癌易感性之间关系的森林图 (C vs. G)

Figure 2 Forest plot on the association between miRNA-146a rs2910164 polymorphism and HCC risk under the allele contrast (C vs. G)

表 2 总体及亚组中 miRNA-146a rs2910164 基因多态性与肝癌易感性之间的关系

Table 2 Meta-analysis results of miRNA-146a rs2910164 polymorphism and HCC risk

分组	C vs. G			GC vs. GG			CC vs. GG			CC+GC vs. GG			CC vs. GC+GG		
	OR(95%CI)	P值	I²(%)	OR(95%CI)	P值	I²(%)	OR(95%CI)	P值	I²(%)	OR(95%CI)	P值	I²(%)	OR(95%CI)	P值	I²(%)
总体(n=18)	0.96(0.88~1.06)	<0.001	63	0.98(0.88~1.09)	0.28	15	0.90(0.74~1.09)	0.001	58	0.95(0.82~1.10)	0.02	46	0.95(0.84~1.07)	0.01	51
亚洲组(n=17)	0.96(0.87~1.05)	<0.001	64	0.97(0.87~1.08)	0.26	16	0.89(0.73~1.01)	0.001	60	0.93(0.80~1.09)	0.02	48	0.95(0.84~1.07)	0.01	54
样本量≥500例(n=11)	0.98(0.90~1.07)	0.03	51	0.99(0.88~1.12)	0.44	0	0.93(0.76~1.12)	0.07	42	0.97(0.84~1.12)	0.20	26	0.98(0.86~1.10)	0.05	46
样本量<500例(n=7)	0.92(0.73~1.16)	<0.001	75	0.96(0.78~1.18)	0.13	39	0.82(0.51~1.34)	0.001	73	0.89(0.63~1.27)	0.01	66	0.88 0.66~1.16	0.02	59

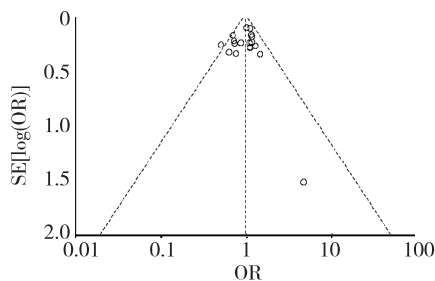


图 3 检测发表偏倚的漏斗图 (GC vs. GG)

Figure 3 Funnel plot for publication bias (GC vs. GG)

明, 这些因素都会对统计结果的精确性产生影响。

虽然本研究表明 miRNA-146a rs2910164 位点基因多态性与肝癌易感性之间无相关性, 但是肝癌发病是基因、环境、饮食等多因素共同作用的结果, 单个位点的基因突变不一定导致发病, 可能只是导致其易感性增加。因此未来需要纳入更大样本量、更多种族以及更高质量的研究, 特别是要增加对高加索人种的研究, 进一步深入研究 miRNA-146a 基因多态性在肝癌易感性中的作用。

[参考文献]

- [1] Katherine A, McGlynn, Jessica L, et al. Global epidemiology of hepatocellular carcinoma: an emphasis on demographic and regional variability[J]. Clin Liver Dis, 2015, 19(2):223-238
- [2] Zhou B, Dong LP, Jing XY, et al. Association between miR-146aG>C and miR-196a2C>T polymorphisms and the risk of hepatocellular carcinoma in a Chinese population [J]. Tumour Biol, 2014, 35(8):7775-7780
- [3] Zhang LH, Hao BB, Zhang CY, et al. Contributions of polymorphisms in miR146a, miR196a, and miR499 to the development of hepatocellular carcinoma [J]. Genet Mol Res, 2016, 15(3): 15038582
- [4] Zhang J, Liu YF, Gan Y. Lack of association between miR-149 C>T polymorphism and cancer susceptibility: a meta-analysis based on 4 677 cases and 4 830 controls [J]. Mol Biol Rep, 2012, 39(87):8749-8753
- [5] Li D, Peng JJ, Tan Y, et al. Genetic variations in microRNA genes and susceptibility to hepatocellular carcinoma [J]. Genet Mol Res, 2015, 14(1):1926-1931

- [6] Li X, Li K, Wu Z. Association of four common SNPs in microRNA polymorphisms with the risk of hepatocellular carcinoma [J]. *Int J Clin Exp Pathol*, 2015, 8(8):9560-9566
- [7] Yan PP, Xia MJ, Gao F, et al. Predictive role of miR-146a rs2910164 (C>G), miR-149 rs2292832(T>C), miR-196a2 rs11614913(T>C) and miR-499 rs3746444 (T>C) in the development of hepatocellular carcinoma [J]. *Int J Clin Exp Pathol*, 2015, 8(11):77-83
- [8] Chu YH, Hsieh MJ, Chiou HL, et al. MicroRNA gene polymorphisms and environmental factors increase patient susceptibility to hepatocellular carcinoma [J]. *PLoS One*, 2014, 9(2):e89930
- [9] Cong N, Chen H, Bu WZ, et al. miR-146a G>C polymorphisms and risk of hepatocellular carcinoma in a Chinese population [J]. *Tumor Biol*, 2014, 35(6):5669-5673
- [10] Kou JT, Fan H, Han D, et al. Association between four common microRNA polymorphisms and the risk of hepatocellular carcinoma and HBV infection [J]. *Oncol Lett*, 2014, 8(3):1255-1260
- [11] Qi JH, Wang J, Chen J, et al. High-resolution melting analysis reveals genetic polymorphisms in microRNAs confer hepatocellular carcinoma risk in Chinese patients [J]. *BMC Cancer*, 2014, 14:643
- [12] Shan YF, Huang YH, Chen ZK, et al. miR-499A>G rs3746444 and miR-146aG>C expression and hepatocellular carcinoma risk in the Chinese population [J]. *Genet Mol Res*, 2013, 12(4):5365-5371
- [13] Zhang J, Wang R, Ma YY, et al. Association between single nucleotide polymorphisms in miRNA196a-2 and miRNA146a and susceptibility to hepatocellular carcinoma in a Chinese population [J]. *Asian Pac J Cancer Prev*, 2013, 14(11):6427-6431
- [14] Hao YX, Wang JP, Zhao LF. Associations between three common microRNA polymorphisms and hepatocellular carcinoma risk in Chinese [J]. *Asian Pac J Cancer Prev*, 2014, 14(11):6601-6604
- [15] Kim WH, Min KT, Jeon YJ, et al. Association study of microRNA polymorphisms with hepatocellular carcinoma in Korean population [J]. *Gene*, 2012, 504(1):92-97
- [16] Xiang Y, Fan S, Cao J, et al. Association of the microRNA-499 variants with susceptibility to hepatocellular carcinoma in a Chinese population [J]. *Mol Biol Rep*, 2012, 39(6):7019-7023
- [17] Zhou J, Lv R, Song X, et al. Association between two genetic variants in miRNA and primary liver cancer risk in the Chinese population [J]. *DNA Cell Biol*, 2012, 31(4):524-530
- [18] Akkiz H, Bayram S, Bekar A, et al. No association of pre-microRNA-146a rs2910164 polymorphism and risk of hepatocellular carcinoma development in Turkish population: a case-control study [J]. *Gene*, 2011, 486(1/2):104-109
- [19] 张新伟, 潘善东, 冯耀良, 等. 微小 RNA 前体区域基因多态与肝细胞肝遗传易感性关联的研究 [J]. *中华预防医学杂志*, 2011, 45(3):239-243
- [20] Xu T, Zhu Y, Wei QK, et al. A functional polymorphism in the miR-146a gene is associated with the risk for hepatocellular carcinoma [J]. *Carcinogenesis*, 2008, 29(11):2126-2131
- [21] 周秀梅, 陈英辉. MicroRNA-146a 单核苷酸多态性的研究进展 [J]. *中国临床医学*, 2015, 22(1):114-116

[收稿日期] 2017-02-23

科技出版物中阿拉伯数字的书写规则

1. 为使多位数字便于阅读,可将数字分成组,从小数点起,向左或向右每 3 位分成 1 组,组间留空隙(约为一个汉字的 1/4),不得用逗号、圆点或其他方式。
2. 纯小数必须写出小数点前用以定位的“0”。
3. 阿拉伯数字不得与除万、亿及法定计量单位词头外的汉字数字连用。如 453 000 000 可写成 45 300 万或 4.53 亿或 4 亿 5 300 万,但不能写成 4 亿 5 千 3 百万;三千元写成 3 000 元或 0.3 万元,但不能写成 3 千元。
4. 一个用阿拉伯数字书写的数值,包括小数与百分数,不能拆开转行。
5. 表示用阿拉伯数字书写的数值范围,使用波浪号“~”。如 10%~20%, (2~6)×10³ 或 2×10³~6×10³, 30~40 km。